
**Microbiologie des aliments —
Préparation des échantillons, de la
suspension mère et des dilutions
décimales en vue de l'examen
microbiologique —**

Partie 6:

**Règles spécifiques pour la préparation
des échantillons prélevés au stade de
production primaire**

[https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/2441d49f-79d2-46b0-8cb6-](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/2441d49f-79d2-46b0-8cb6-2013-03-01)

*Microbiology of food and animal feed — Preparation of test
samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological
examination —*

*Part 6: Specific rules for the preparation of samples taken at the
primary production stage*



iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 6887-6:2013

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/2441d49f-79d2-46b0-8cb6-25746956ba8b/iso-6887-6-2013>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2013

Droits de reproduction réservés. Sauf indication contraire, aucune partie de cette publication ne peut être reproduite ni utilisée sous quelque forme que ce soit et par aucun procédé, électronique ou mécanique, y compris la photocopie, l'affichage sur l'internet ou sur un Intranet, sans autorisation écrite préalable. Les demandes d'autorisation peuvent être adressées à l'ISO à l'adresse ci-après ou au comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

ISO copyright office
Case postale 56 • CH-1211 Geneva 20
Tel. + 41 22 749 01 11
Fax + 41 22 749 09 47
E-mail copyright@iso.org
Web www.iso.org

Publié en Suisse

Sommaire

Page

Avant-propos	iv
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	1
3 Termes et définitions	1
4 Principe	2
5 Diluants et désinfectants	2
5.1 Diluants pour des besoins particuliers.....	2
5.2 Désinfectants pour utilisation pendant l'examen de laboratoire.....	3
6 Appareillage et verrerie de laboratoire	3
7 Types d'échantillons pouvant être envoyés au laboratoire	3
8 Préparation des échantillons	3
8.1 Généralités.....	3
8.2 Stockage.....	4
9 Modes opératoires spécifiques	4
9.1 Modes opératoires réalisés sur des échantillons prélevés dans un élevage.....	4
9.2 Modes opératoires réalisés sur des échantillons prélevés à l'abattoir.....	6
9.3 Modes opératoires réalisés sur des échantillons prélevés sur des volailles au couvoir ou au moment du transport du couvoir à l'élevage.....	8
10 Dilutions décimales suivantes	9
Bibliographie	10

ISO 6887-6:2013

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/2441d49f-79d2-46b0-8cb6-25746956ba8b/iso-6887-6-2013>

Avant-propos

L'ISO (Organisation internationale de normalisation) est une fédération mondiale d'organismes nationaux de normalisation (comités membres de l'ISO). L'élaboration des Normes internationales est en général confiée aux comités techniques de l'ISO. Chaque comité membre intéressé par une étude a le droit de faire partie du comité technique créé à cet effet. Les organisations internationales, gouvernementales et non gouvernementales, en liaison avec l'ISO participent également aux travaux. L'ISO collabore étroitement avec la Commission électrotechnique internationale (CEI) en ce qui concerne la normalisation électrotechnique.

Les Normes internationales sont rédigées conformément aux règles données dans les Directives ISO/CEI, Partie 2.

La tâche principale des comités techniques est d'élaborer les Normes internationales. Les projets de Normes internationales adoptés par les comités techniques sont soumis aux comités membres pour vote. Leur publication comme Normes internationales requiert l'approbation de 75 % au moins des comités membres votants.

L'attention est appelée sur le fait que certains des éléments du présent document peuvent faire l'objet de droits de propriété intellectuelle ou de droits analogues. L'ISO ne saurait être tenue pour responsable de ne pas avoir identifié de tels droits de propriété et averti de leur existence.

L'ISO 6887-6 a été élaborée par le comité technique CEN/TC 275, *Analyse des produits alimentaires — Méthodes horizontales*, du Comité européen de normalisation (CEN) en collaboration avec le comité technique ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 9, *Microbiologie*, conformément à l'Accord de coopération technique entre l'ISO et le CEN (Accord de Vienne).

L'ISO 6887 comprend les parties suivantes, présentées sous le titre général *Microbiologie des aliments — Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique*:

- *Partie 1: Règles générales pour la préparation de la suspension mère et des dilutions décimales*
- *Partie 2: Règles spécifiques pour la préparation des viandes et produits à base de viande*
- *Partie 3: Règles spécifiques pour la préparation des produits de la pêche*
- *Partie 4: Règles spécifiques pour la préparation de produits autres que les produits laitiers, les produits carnés et les produits de la pêche*
- *Partie 5: Règles spécifiques pour la préparation du lait et des produits laitiers*
- *Partie 6: Règles spécifiques pour la préparation des échantillons prélevés au stade de production primaire*

Microbiologie des aliments — Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique —

Partie 6:

Règles spécifiques pour la préparation des échantillons prélevés au stade de production primaire

1 Domaine d'application

La présente partie de l'ISO 6887 spécifie des règles pour la préparation d'échantillons prélevés à toutes les étapes depuis l'élevage jusqu'à l'abattoir et leur suspension pour examen biologique lorsque les échantillons nécessitent une méthode de préparation différente de celles décrites dans l'ISO 6887-1. L'ISO 6887-1 définit les règles générales pour la préparation de la suspension mère et des dilutions décimales en vue d'examen microbiologiques.

La présente partie de l'ISO 6887 n'inclut pas la préparation d'échantillons destinés à des méthodes de recherche et de dénombrement dont les détails concernant la préparation sont spécifiés dans les Normes internationales appropriées.

La présente partie de l'ISO 6887 est applicable aux divers échantillons prélevés dans un couvoir, un élevage, un véhicule ou sur les animaux pendant le transport, ou sur les animaux ou leur carcasse à l'abattoir, afin d'indiquer le statut microbiologique des animaux par rapport à des agents zoonotiques. La présente partie de l'ISO 6887 ne s'applique pas aux échantillons prélevés pour évaluer l'hygiène de la viande.

La présente partie de l'ISO 6887 ne prend pas en compte les échantillons prélevés dans l'environnement aquatique (marin ou d'eau douce) au stade de la production primaire. Ceux-ci sont traités dans l'ISO 6887-3.

2 Références normatives

Les documents de référence suivants sont indispensables pour l'application du présent document. Pour les références datées, seule l'édition citée s'applique. Pour les références non datées, la dernière édition du document de référence s'applique (y compris les éventuels amendements).

ISO 6887-1, *Microbiologie des aliments — Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique — Partie 1: Règles générales pour la préparation de la suspension mère et des dilutions décimales*

ISO 7218:2007, *Microbiologie des aliments — Exigences générales et recommandations*

ISO 13307, *Microbiologie des aliments — Stade de production primaire — Techniques de prélèvement*

3 Termes et définitions

Pour les besoins du présent document, les termes et définitions suivants s'appliquent.

3.1

échantillon pour laboratoire

échantillon préparé pour être envoyé au laboratoire et destiné aux essais ou inspections

3.2

prise d'essai

échantillon représentatif mesuré (volume ou masse) prélevé sur l'échantillon pour laboratoire (3.1) pour servir à la préparation de la *suspension mère* (3.4)

3.3

échantillon groupé

échantillon composite prélevé sur un nombre déterminé d'animaux différents ou composé de plusieurs échantillons environnementaux

3.4

suspension mère

première dilution

suspension, solution ou émulsion obtenue après qu'une quantité pesée ou mesurée du produit à analyser (ou d'un échantillon pour essai préparé à partir de ce produit) a été mélangée avec une quantité de diluant égale le plus souvent à neuf fois la quantité de produit, en laissant se déposer les grosses particules, s'il y en a

Note 1 à l'article: Parfois, des dilutions mères plus ou moins élevées sont préparées, par exemple, 1 pour 5 ou 1 pour 100 ($V_1 \rightarrow V_2$).

3.5

dilutions décimales suivantes

suspension ou solution obtenue en mélangeant un volume mesuré de la *suspension mère* (3.4) avec neuf fois le volume de diluant et en répétant cette opération avec chaque dilution préparée de cette façon, jusqu'à l'obtention d'une série de dilution décimale, appropriée pour l'ensemencement des milieux de culture

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

4 Principe

La suspension mère (3.4) est préparée de façon à obtenir une répartition aussi uniforme que possible des micro-organismes contenus dans l'échantillon pour essai, sans réduire leur viabilité.

Une suspension de pré-enrichissement ou d'enrichissement est préparée de la même façon, avec utilisation du milieu préconisé par la méthode d'analyse concernée, sauf cas particuliers mentionnés dans chaque paragraphe (chapitre) relatif à un produit de la présente partie de l'ISO 6887.

Si nécessaire, des dilutions suivantes (3.5) sont préparées en vue de réduire le nombre de micro-organismes par unité de volume pour permettre, après incubation, d'observer leur éventuel développement (cas des milieux liquides) ou de dénombrer les colonies (en inclusion ou en surface d'une gélose coulée en boîte), comme précisé dans chaque norme spécifique.

Pour restreindre, si nécessaire, le domaine de dénombrement à un intervalle donné, ou si un nombre élevé de micro-organismes est attendu, il est possible d'ensemencer uniquement les dilutions appropriées (au moins deux dilutions successives) selon le mode de calcul décrit dans l'ISO 7218.

5 Diluants et désinfectants

Des diluants d'emploi général sont décrits dans l'ISO 6887-1.

5.1 Diluants pour des besoins particuliers

5.1.1 Agents neutralisants

Le liquide neutralisant, préparé conformément à l'ISO 13307, est utilisé si besoin à une concentration de 10 % dans le volume final de diluant. Le neutralisant est normalement ajouté lorsque l'échantillon est prélevé, avant transport au laboratoire.

NOTE Si un taux élevé de formol dans les échantillons est suspecté, du L-histidine (0,9 %) peut aussi être ajouté au bouillon de pré-enrichissement.

5.2 Désinfectants pour utilisation pendant l'examen de laboratoire

Des exemples de désinfectants sont donnés dans l'ISO 7218:2007, 6.2.4.

6 Appareillage et verrerie de laboratoire

Matériel courant de laboratoire de microbiologie pour usage général (voir l'ISO 6887-1 et l'ISO 7218) et, en particulier, ce qui suit:

6.1 Homogénéisateurs

6.1.1 Homogénéisateur péristaltique (stomacher).

6.1.2 Homogénéisateur de type rotatif (blender).

6.1.3 Homogénéisateur par vibrations (pulsifier).

6.2 Marteau ou maillet en plastique, stériles.

6.3 Sable, pilon et mortier stériles.

6.4 Pinces, ciseaux, scalpels, spatules et cuillères, stériles.

6.5 Fioles ou flacons à bouchon à vis stériles de capacité appropriée.

6.6 Pipettes stériles graduées à écoulement total et système de pipetage.

[https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/2441d49f-79d2-46b0-8cb6-](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/2441d49f-79d2-46b0-8cb6-25746956ba8b/iso-6887-6-2013)

[25746956ba8b/iso-6887-6-2013](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/2441d49f-79d2-46b0-8cb6-25746956ba8b/iso-6887-6-2013)

7 Types d'échantillons pouvant être envoyés au laboratoire

Les échantillons doivent être prélevés et transportés conformément à l'ISO 7218 et l'ISO 13307.

La liste suivante est donnée à titre d'exemple seulement. Des informations plus détaillées sur les échantillons nécessaires dans des situations différentes sont données dans l'Article 9:

- des échantillons prélevés à l'élevage;
- dans l'environnement (par exemple chiffonnettes, déchets, matières fécales, poussières, eau);
- sur les animaux (par exemple écouvillons);
- des échantillons prélevés à l'abattoir (par exemple contenu rectal ou cæcal, ganglions lymphatiques mésentériques);
- des échantillons prélevés au couvoir (par exemple fonds de casiers d'éclosoir, coquilles d'œuf cassées);
- des échantillons prélevés sur des véhicules, des modules ou des caisses pour le transport d'animaux (par exemple chiffonnettes).

8 Préparation des échantillons

8.1 Généralités

Il est recommandé de réaliser toutes les préparations et les manipulations à l'aide de bonnes techniques d'asepsie et avec du matériel stérile afin de prévenir la contamination microbiologique des échantillons par des sources extérieures (voir l'ISO 7218).

Si l'échantillon est transféré dans un autre récipient et que la totalité de l'échantillon pour laboratoire doit être utilisée, s'assurer que tout l'échantillon est transféré (par exemple lors du transfert de chaussettes d'un récipient d'origine dans un nouveau récipient, veiller à ce qu'aucun matériau provenant des chaussettes ne demeure dans l'ancien récipient).

Indiquer dans le rapport le mode opératoire utilisé pour l'analyse s'il est différent du mode opératoire décrit dans la présente partie de l'ISO 6887.

8.2 Stockage

Les échantillons doivent être stockés dans des conditions appropriées à la survie optimale du/des micro-organisme(s) recherché(s), conformément à l'ISO 7218.

9 Modes opératoires spécifiques

9.1 Modes opératoires réalisés sur des échantillons prélevés dans un élevage

9.1.1 Échantillons provenant de l'environnement ou d'animaux vivants

9.1.1.1 Chiffonnettes

Si possible, ajouter directement à l'échantillon dans le récipient de transport la quantité appropriée de milieu. Le volume particulier à ajouter dépend de la taille de la chiffonnette et du but de l'essai. Il est important de s'assurer que toutes les parties de la chiffonnette sont immergées.

Tenir compte de l'effet de la quantité de milieu ajoutée sur la limite de détection de l'essai (voir la note en 3.4).

Pour le dénombrement, ajouter une quantité suffisante de milieu pour imbiber complètement la chiffonnette tout en apportant un minimum de liquide libre nécessaire au dénombrement, et pour la recherche, s'assurer qu'un volume suffisant de liquide libre est présent.

Par exemple, pour le dénombrement provenant d'une chiffonnette en éponge de 10 cm x 10 cm, ajouter 100 ml de diluant. Presser la chiffonnette plusieurs fois (par exemple à la main, si le récipient est un sac) de manière à libérer les micro-organismes dans la suspension, puis bien agiter.

Pour la recherche, la chiffonnette est incluse dans le milieu de culture.

9.1.1.2 Écouvillons

Transférer l'écouvillon dans un récipient approprié. Casser ou couper le bâtonnet (si nécessaire à l'aide de matériel stérile) ajouter la quantité appropriée de milieu et mélanger. Si l'écouvillon se trouve déjà dans un tube ou dans un récipient approprié, ajouter le milieu dans le même récipient, sauf si le récipient contenant l'écouvillon comprend un milieu de transport solide.

Le cas échéant, les écouvillons peuvent être groupés, en ajoutant un volume approprié de milieu.

9.1.1.3 Chaussettes, chiffonnets à traîner, cordes à mâcher

Si possible, ajouter directement dans le récipient de transport la quantité appropriée de milieu.

S'assurer que toutes les parties des chaussettes, chiffonnets à traîner ou cordes à mâcher sont immergées.

Par exemple, pour l'essai *Salmonella*, ajouter au minimum 225 ml du diluant approprié (voir l'ISO 6579:2002, Annexe D) par paire de chaussettes.

9.1.1.4 Écouvillons à drain de Moore (écouvillon tampon)

Manipuler le écouvillons à drain de Moore comme les chaussettes (voir 9.1.1.3), toutefois un rapport milieu/échantillon de 1/20 peut être avantageux en raison de l'accumulation, sur la durée, d'un nombre élevé d'organismes.

9.1.1.5 Échantillons de litière et matières fécales regroupées naturellement

Il est important d'homogénéiser l'échantillon pour laboratoire en mélangeant les matériaux secs ou en ajoutant l'échantillon à une quantité égale de diluant, ce qui peut être fait dans le récipient utilisé pour le transport. Mélanger pour former une suspension pâteuse. Laisser reposer pendant 10 min à 15 min et mélanger de nouveau. Prélever 50 ml de suspension (contenant 25 g de l'échantillon initial) et ajouter à un volume approprié de diluant conformément à la norme spécifique du micro-organisme recherché.

9.1.1.6 Échantillons de matière fécale

Échantillon individuel: prendre la totalité de l'échantillon s'il y en a peu, ou une prise d'essai. La mélanger doucement et ajouter la quantité appropriée de milieu conformément au mode opératoire ISO spécifique suivi.

Pour les échantillons difficiles à mélanger, voir [9.1.1.5](#).

Pour les échantillons groupés: mélanger le plus soigneusement possible chaque échantillon, prélever une quantité égale de chaque échantillon, ajouter la quantité appropriée de milieu conformément à la norme spécifique du micro-organisme recherché suivie et mélanger encore soigneusement.

Il est préférable de ne pas regrouper plus de 20 matières fécales d'animaux.

9.1.1.7 Poussières

Cet échantillon est généralement approprié pour *Salmonella* ou d'autres organismes résistants, mais pas pour *Campylobacter*, par exemple.

10 g de poussières au minimum doivent être utilisés. Une dilution au 1:20 de l'échantillon dans le milieu d'enrichissement est recommandée pour la recherche de *Salmonella* dans les échantillons très absorbants comme la poussière. Des échantillons de grande taille peuvent être préparés en les mélangeant à 1:4 avec le diluant, et en prélevant ensuite un sous-échantillon, qui est alors dilué à 1:5 pour pré-enrichissement, en s'assurant qu'il y a au minimum 10 g de l'échantillon d'origine inclus. Jusqu'à 25 g d'échantillon peuvent être mis en culture sans sous-échantillonnage.

Pour éviter de manipuler les poussières dans le laboratoire et ainsi réduire le risque de contamination croisée, il est conseillé de recueillir les poussières à analyser dans des sacs ou des récipients suffisamment grands pour qu'au laboratoire il soit seulement nécessaire d'ajouter la quantité requise de milieu. Il est recommandé de manipuler les poussières libres dans une hotte à flux laminaire.

9.1.1.8 Eau

De petits volumes d'eau (comme 100 ml) peuvent être ajoutés à un volume égal de milieu double concentration pour culture. Mettre l'eau dans un récipient de taille adaptée, ajouter le milieu, conformément au rapport mentionné dans la méthode internationale spécifique et agiter.

Pour les volumes d'eau importants provenant des réseaux de distribution d'eau: filtrer l'échantillon à l'aide d'un filtre ayant des pores de 0,45 µm, (pour *Campylobacter*, taille des pores de 0,20 µm), puis mettre le filtre à cultiver. Plus le volume d'eau filtrée est important, plus la recherche est précise.

Pour toute précision complémentaire, voir l'ISO 8199.